RÉPUBLIQUE FRANÇAISE (19)

> INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIÈLLE

> > **PARIS**

Nº d publication: (à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

N° d' nregistrement national :

2 560 220

85 02737

Int CI4: C 25 B 9/00, 7/00.

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

Α1

(22) Date de dépôt : 26 février 1985.

Priorité: US, 27 février 1984, nº 584 138.

(71) Demandeur(s): INTERNATIONAL BIOTECHNOLOGIES. INC, société organisée selon les lois de l'Etat du Delaware. - US.

Date de la mise à disposition du public de la demande: BOPI « Brevets » nº 35 du 30 août 1985.

Références à d'autres documents nationaux apparentés :

(72) Inventeur(s): John H. Kreisher, Hal D. Belle Isle et Charles A. Nalbantian.

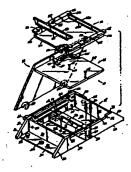
(73) Titulaire(s):

(74) Mandataire(s): Cabinet Sauvage.

(54) Dispositif d'électrophorèse à gel horizontal.

(57) Le dispositif d'électrophorèse à plaque de gel horizontale 10 est formé d'une base 12 contenant deux chambres à tampon 24 26 séparées par une cloison centrale 32 disposée au-dessous d'un support horizontal 14. Un plateau à gel amovible 16 est placé sur le support 14 et il contient la plaque de gel et les échantillons à analyser. Une électrode 78 80 est placée dans chacune des chambres à tampon au voisinage de la cloison 32. Un robinet 56 est prévu dans la cloison 32 pour régler l'écoulement de fluide entre les chambres à tampon.

Le dispositif est utilisable dans l'analyse par électrophorèse d'échantillons contenus dans une plaque de gel supportée par le plateau amovible 16.



La présente invention concerne un dispositif d'électrophorèse à gel horizontal. Plus précisément, elle concerne un dispositif d'électrophorèse à plaque de gel horizontale ayant des électrodes disposées au-dessous d'un support horizontal adjacent à deux chambres à tampon dans la base du dispositif.

De nombreux dispositifs d'électrophorèse ont été mis au point depuis la découverte du fait que des particules chargées en suspension entre les pôles d'un champ électrique ont tendance à se déplacer en direction du pôle de charge opposée à celle de la particule. Différents facteurs affectent la vitesse du déplacement, notamment les caractéristiques de la particule, les propriétés du champ électrique, ainsi que des facteurs liés à l'environnement, tels que la température et la nature du milieu de suspension.

Les dispositifs disponibles dans le commerce utilisent normalement une plaque de gel verticale contenant des échantillons de colloïdes ou d'ions à analyser. La distance sur laquelle s'effectue le déplacement dans une direction verticale, lorsque les échantillons sous soumis à un champ électrique, est utilisée pour déterminer les composants desdits échantillons.

Plus récemment, des efforts ont été faits en vue de la mise au point d'un dispositif d'électrolyse à gel horizontal en vue de l'analyse de solutions de particules colloïdales ou de composants ioniques. Par exemple, le brevet des Etats-Unis n° 4.151.065, délivré le 18 Novembre 1986, décrit un dispositif d'électrophorèse à plaque de gel horizontale qui comporte des chambres à tampon à chacune des extrémités du dispositif et qui sont séparées par un support horizontal. Les électrodes sont disposées à l'intérieur de chacune des chambres à tampon, et un plateau de gel amovible est placé sur le support. Une plaque de gel est formée dans la zone délimitée par le plateau et des parties d'extrémité amovibles sont enlevées une fois que le gel s'est solidifié.

Des mèches sont introduites dans les chambres à tampon pour venir en contact avec les extrémités à nu des plaques

iΟ

: 5

2)

2.1

3C

de gel. Lorsque le courant est appliqué, il passe de l'électrode au travers de la chambre à tampon jusqu'aux mèches, puis vers la plaque de gel, puis hors de la chambre à tampon opposée, dans l'ordre inverse. Le mouvement des particules au travers de la plaque de gel se fait ensuite et résultats peuvent être photographiés à d'enregistrement permanent. Bien que ce dispositif se soit révélé efficace dans l'analyse de particules colloidales et de composants ioniques, il demande des améliorations en ce qui concerne la circulation du milieu tampon dans les chambres à tampon, le moulage de gels acrylamides sur place, l'amélioration de la stabilité du dispositif, et la facilité avec laquelle les électrodes peuvent être remplacées sans être endommagées.

Un but principal de l'invention est d'apporter un dispositif d'électrophorèse perfectionné, à plaque de gel horizontale.

Un autre but de l'invention est d'apporter des moyens perfectionnés pour la circulation de fluides dans des chambres à tampon appartenant à des dispositifs d'électrophorèse à plaque de gel horizontale.

Un autre but de l'invention est d'apporter une technique perfectionnée pour le remplacement des électrodes dans des dispositifs d'électrophorèse à plaque de gel horizontale.

L'invention se propose encore d'apporter une chambre de répartition d'azote pour le moulage de gels acrylamides à l'intérieur d'un dispositif d'électrophorèse.

Un autre but de l'invention est d'apporter un couvercle amélioré pour les dispositifs d'électrophorèse à plaque de gel horizontale.

L'invention se propose encore d'apporter un mécanisme de mise à niveau amélioré pour obtenir des plaques de gel horizontales dans le plateau de détection d'un dispositif d'électrophorèse à plaque de gel horizontale.

Ces buts et d'autres ressortiront de la description détaillée ci-après.

10

15

20

25

30

On a découvert que les buts précités sont atteints dans un dispositif d'électrophorèse à gel horizontal formé de deux chambres à tampon, d'un support généralement plat disposé à cheval sur lesdites chambres à tampon, plateau à gel amovible disposé sur ledit support pour contenir le gel et les échantillons à analyser, d'une électrode dans chacune des chambres à tampon, et d'un couvercle amovible pour lesdites chambres à tampon, ledit dispositif étant caractérisé en ce qu'il comprend, combinaison avec les éléments précédents, des moyens formant cloison centrale disposés au-dessous dudit séparant lesdites chambres à tampon l'une de l'autre, des moyens formant robinet dans lesdits moyens formant cloison centrale pour régler l'écoulement de fluide entre lesdites chambres à tampon, et un orifice dans chacune desdites chambres à tampon pour introduire des fluides dans lesdites chambres.

Dans les dessins annexés :

- la figure 1 est une vue isométrique éclatée d'un
 dispositif d'électrophorèse à plaque de gel horizontale selon l'invention;
 - la figure 2 est une vue de dessus du nouveau dispositif d'électrophorèse selon l'invention;
 - la figure 3 est une vue en élévation latérale du dispositif d'électrophorèse selon l'invention;
 - la figure 4 est une vue en élévation d'extrémité du dispositif d'électrophorèse selon l'invention ; et
 - la figure 5 est une vue en coupe transversale des moyens de fixation d'électrodes du dispositif d'électrophorèse selon l'invention.

Si l'on se réfère à la figure 1 qui montre une vue isométrique éclatée du dispositif d'électrophorèse 10 à plaque de gel horizontale selon l'invention, on voit qu'il est formé de quatre composants principaux, à savoir d'une base 12 de dispositif, d'un support 14, d'un plateau amovible à gel 16 et d'un couvercle amovible 18. Les figures 2 à 4 montrent également c s composants, respectivement, en

5

10

15

25

30

vue en élévation de dessus, de côté et d'extrémité.

Comme il ressort des figures, la base de dispositif 12 est formée d'un panneau avant 20 et d'un panneau arrière 22, qui sont parallèles et trapézoïdaux et qui, non seulement appartiennent à la chambre 12, mais également constituent les côtés parallèles opposés de chambres à tampon 24 et 26. Les panneaux 20 et 22 sont perpendiculaires au fond 34. Les chambres à tampon 24 et 26 sont également formées par des panneaux d'extrémité 28 et 30 respectivement, et par une cloison centrale 32, lesdits panneaux d'extrémité et ladite cloison étant tous fixés perpendiculairement au fond 34 et étant tous substantiellement parallèles les uns aux autres. On préfère utiliser des chambres à tampon 24 et 26 ayant sensiblement le même volume, mais on peut également utiliser des chambres de volumes différents si on le désire.

Le panneau avant 20 et le panneau arrière 22 ont substantiellement les mêmes dimensions et leur bord inférieur 36 est substantiellement plus long que leur bord supérieur 38. Les bords supérieurs et les bords inférieurs sont réunis pas des bords obliques 40. Chaque bord supérieur 38 présente une découpe sur la distance comprise entre les deux encoches à plateau 42 pour recevoir le plateau amovible à gel 16 comme on le décrira plus loin avec davantage de détails.

La cloison centrale 32 est perpendiculaire au fond 34 et sa hauteur est inférieure au bord récepteur de plateau 44 de la distance 46. Deux paires de bras support 47 se projettent à partir de la cloison centrale 32 pour donner de la stabilité au support 14.

Les panneaux d'extrémité 28 et 30 sont fixés au fond 34 en un point adjacent à la zone dans laquelle les bords obliques 40 rejoignent les bords supérieurs 38. Ainsi, des parties de base 48 sont sauvegardées pour la mise en place d'un niveau à bulle 50 et de vis de mise à niveau 52 et 54. Une goupille de mise à niveau 55 est disposée sur la face inférieure du fond 34 en un point situé au-dessous de la cloison centrale 32. Avec la goupille de mise à niveau 55

10

15

20

25

30

dans cette position, on peut régler l'horizontalité du dispositif en agissant sur les vis de mise à niveau 52 et 54 et en contrôlant à l'aide du niveau à bulle 50 tout en ayant une base fixe lorsque le couvercle amovible 18 repose sur le dessus de la base 12.

Un robinet 56 est fixé dans la cloison centrale 32 pour régler l'écoulement des fluides entre les chambres à tampon 24 et 26, lorsqu'on le désire. En fonctionnement normal, le robinet 56 est fermé. Cependant, si l'on désire régénérer ou équilibrer la solution tampon contenue dans les chambres, on peut ouvrir le robinet 56 et la circulation du tampon dans les chambres à tampon est obtenue à l'aide d'une pompe convenable (non représentée).

Les orifices 58 et 60 sont disposés respectivement dans les chambres à tampon 24 et 26, dans le panneau arrière 22, pour permettre l'introduction de tampon additionnel dans l'une ou l'autre chambre et également de permettre, lorsque le robinet 56 est en position ouverte, la circulation de la solution tampon à l'aide de moyens de pompage appropriés (non représentés). De plus, de l'azote peut être introduit dans les chambres à tampon 24 et 26 lorsque l'on utilise des gels du type acrylamide ou analogues dans le plateau amovible à gel 16, comme cela sera décrit avec davantage de détails ci-après.

A l'extérieur du panneau arrière 22, sont fixés deux supports 62 et 64 présentant une ouverture latérale adaptée à recevoir une barre 66 formant charnière.

La cloison centrale 32 est pourvue de deux ouvertures 68 et 70 qui communiquent avec des ouvertures (non représentées) prévues dans le panneau arrière 22 pour admettre un fluide dans le support 14. Des trous filetés 71 sont prévus dans la cloison centrale 32 pour recevoir des vis 72 adaptées à fixer le support 14 à la cloison 32, lesdites vis 72 pénétrant au travers de trous 74 prévus dans ledit support. Le support amovible 14 permet une utilisation et un entretien faciles. Un joint 76 est également prévu pour venir en place entre la face supérieure de la cloison

centrale 32 et les bras support 47, et la face inférieure du support 14 pour empêcher l'écoulement de fluide ou de charge électrique entre les chambres à tampon 24 et 26 autrement que par le robinet de commande 56.

Deux électrodes, en général des fils de platine, 78 et 80, sont disposées dans les chambres à tampon 24 et 26, respectivement. Chaque électrode a une partie horizontale 82 et une partie verticale non découverte 84 représentées en figure 1. La partie horizontale est pointillés à la immobilisée par scellement par points ou d'une autre manière, dans une rainure 86 prévue dans la surface supérieure du fond 34.

Comme il ressort de la figure 5, la partie verticale 84 de chaque électrode a une extrémité supérieure qui est placée à l'intérieur d'une tige 88 ayant un joint 90 dans sa partie inférieure. La tige 88 et l'extrémité supérieure de partie verticale 84 sont disposées dans d'électrode 92 et un connecteur 96 du genre boulon, ci-après appelé fiche banane 96, est placé dans le trou d'électrode 92. La fiche banane 96 présente une ouverture 94 dans son extrémité inférieure pour recevoir la tige 88 et l'extrémité supérieure de la partie verticale 84. La fiche banane 96 est en pression étroite par les filetages contre le bord du plateau 44 pour réaliser un contact électrique ferme avec l'extrémité supérieure de la partie verticale 84. Ces fiches bananes 96, non seulement fixent fermement les électrodes 78 et 80 dans la base du dispositif 12, mais également donnent un contact et une connexion aisés avec les fils convenables pour la transmission du courant en vue du fonctionnement du dispositif d'électrophorèse 10.

La base du dispositif 12 représentée aux figures 1 à 4 est normalement réalisée en un matériau synthétique approprié, tel qu'en une matière acrylique, en poly(chlorure de vinyle) ou en d'autres types similaires de matières plastiques. On préfère les matières plastiques transparentes et résistant aux produits chimiques de ce type, car il est possible d'observer le fonctionnement du dispositif d'élec-

15

20

25

trophorèse 10 et d'effectuer des photographies pendant ce fonctionnement.

Si l'on se réfère aux figures 1 à 4, le support 14 est constitié d'un matériau sandwich de type acrylique ou d'un autre polymère chimiquement inerte, d'alumine, de céramique, ou d'un autre matériau ne conduisant pas l'électricité tel matériau ne conduisant pas l'électricité revêtu d'aluminium. La feuille supérieure 102 du sanwich est plate et la feuille inférieure 104 présente des rainures 105 qui sont creusées pour offrir une voie de circulation à un réfrigérant amené au support 14 pendant le fonctionnement de l'unité d'électrophorèse 10. Le support 14 est pourvu de trous 98 et 100 qui viennent en correspondance, respectivement, avec les ouvertures 68 et 70 de la cloison centrale 32 pour recevoir et évacuer le fluide de refroidissement. Le fluide pénètre dans une ouverture (non représentée) de la surface extérieure du panneau arrière 22 par l'ouverture 68 de la cloison centrale 32 et le joint 67 jusque dans le trou 98. La largeur du support 14 correspond à la distance entre l'intérieur du panneau avant 20 et l'intérieur du panneau arrière 22 pour offrir un support horizontal fixe au plateau de gel amovible 16. La longueur du support 14 est quelque peu inférieure à la distance comprise entre les panneaux d'extrémité 28 et 30 pour disposer de suffisamment de place pour faire fonctionner la cellule dans les conditions de méchage classique telles que décrites dans le brevet des Etats-Unis nº 4.151.065 précité. Lorsque le support 14 est placé sur le joint 76 et fixé à la cloison centrale 32 au moyen des vis 72, il y a une séparation étanche aux fluides entre les chambres à tampon 24 et 26. Simultanément, l'écoulement du liquide réfrigérant se fait par ouvertures 68 et 98 dans les rainures 105, le long du chemin de circulation et hors des ouvertures 100 et 70, tout en réfrigérant le tampon et le gel. Cela est obtenu sans contaminer la solution tampon ou autre fluide susceptible d'être présent.

En outre, le support 14 protège les parties horizonta-

10

15

20

25

30

les 82 des électrodes 78 et 80. Par suite, les électrodes 78 et 80 peuvent être soumises à des périodes prolongées d'utilisation sans qu'il soit besoin de les remplacer. De plus, il est relativement simple de remplacer des électrodes endommagées en enlevant les fiches bananes 96 et en retirant les électrodes en fil de platine endommagées par les trous à électrodes 92, puis en remplaçant les électrodes endommagées par de nouvelles.

Le plateau à gel amovible 16 est formé d'un fond plat 106 transparent et transmettant les ultra-violets et de deux côtés d'extrémités 108 et 110 qui sont parallèles entre eux et perpendiculaires au fond plat 106. Chacun des côtés 108 et 110 a un bord plat 112 et 114, respectivement, qui s'adapte au bord récepteur de plateau 44 des panneaux avant 20 et arrière 22, respectivement. La longueur du plateau à gel amovible 16 correspond à la longueur du support 14 et 1e plateau 16 est adapté à reposer sur ledit support.

10

20

30

35

Chacun des bords 112 et 114 du plateau à gel amovible 16 présente une série d'encoches à électrodes 115 adaptées à venir entourer les fiches bananes 96 qui sont disposées verticalement dans le panneau avant 20. En ayant de telles encoches 15 dans chacun des bords, il est possible de déposer le plateau à gel amovible 16 sur le support 14 dans l'une ou l'autre direction sans se soucier de l'emplacement des électrodes. Du fait que le milieu de détection est fréquemment liquide lorsque le plateau à gel amovible 16 est placé dans le dispositif, il est quelquefois malcommode d'avoir à tourner le plateau à gel amovible dans la direction opposée pour le mettre en place dans le dispositif d'électrophorèse 10.

Les côtés 108 et 110 du plateau à gel amovible 16 sont pourvus d'une paire de fentes verticales 116 qui sont placées au voisinage des extrémités de chacun des côtés 108 et 110. De plus, trois paires de rainures 118 sont prévues au voisinage de chacune des extrémités et au centre des côtés 108 et 110 pour permettre l'insertion de peignes à échantillons 120. Chaque peigne à échantillon 120 comporte

une série de dents à échantillon 122 qui peut comporter de 1 à environ 30 dents ou plus selon la taille du plateau à gel amovible et la capacité du dispositif d'électrophorèse 10. La longueur des dents d'échantillon 122 est suffisante pour maintenir un petit niveau de gel d'environ 1 mm sur la surface du plateau à gel amovible 16 tout en créant des puits pour l'adjonction d'échantillons au gel après qu'il soit formé.

couvercle amovible 18 est de forme Le rectangulaire et il est réalisé en un matériau transparent résistant aux produits chimiques et transmettant la lumière ultra-violette comme le plateau 16. Cependant, l'épaisseur du couvercle 18 est suffisante pour le rendre imperméable à un fort rayonnement beta. En général, une épaisseur de 6,35 mm ou plus est satisfaisante. Le couvercle amovible 18 comporte sur sa face intérieure deux charnières courbes ouvertes 124 adaptées à venir se placer sur la tige 66 et à permettre la rotation du couvercle amovible autour de la tige 66. Les charnières 124 permettent au couvercle 18 de recouvrir complètement les chambres à tampon 24 et 26. Sur la face opposée du couvercle 18 par rapport aux charnières 124, il est prévu deux ouvertures supérieures d'électrodes 126 pour permettre la fermeture du couvercle et l'accès à la partie supérieure des fiches bananes 96 pour les relier à une source d'énergie. Une source d'énergie convenable est ensuite reliée aux fiches bananes 96 pour permettre le fonctionnement du dispositif d'électrophorèse lorsqu'on le désire.

Lorsque le couvercle 18 est ouvert, les charnières courbes le positionnent selon un angle d'environ 90° par rapport à l'horizontale. Dans cette position, le couvercle 18 forme écran aux rayonnements qui peuvent provenir des échantillons en cours d'analyse et offrent à l'opérateur une protection pendant ce fonctionnement. En outre, lorsque le couvercle 18 est fermé, il est facilement mis de niveau grâce aux vis 52 et 54. Par suite, lorsqu'un plateau à gel amovible est dans le dispositif d'électrophorèse 10 pendant

10

15

20

25

5.

10

15

20

25

30

35

le fonctionnement, il est possible, tandis que le premier jeu d'échantillons est en cours d'électrophorèse, de mettre un second plateau 16 à gel amovible sur le couvercle 18 et de couler un second gel.

Dans le procédé fonctionnement de du dispositif d'électrophorèse 10, un gel approprié est coulé dans un plateau à gel amovible 16 en plaçant tout d'abord un morceau de ruban de masquage, ou une séparation plastique d'un côté 108 à l'autre 110 du plateau pour réaliser un récipient étanche aux liquides, adapté à recevoir les composants du gel. Tout gel convenable, tel que du gel d'agar-agar ayant des pourcentages de gel compris entre environ 0,2 et environ 2 % en poids et de préférence d'environ 0,3 à environ 1,5 en poids peut être utilisé.

Après avoir bordé ou obturé les extrémités du plateau à gel amovible 16, on peut le placer dans l'unité d'électrophorèse 10 ou sur le couvercle 18. L'unité, dans son ensemble, est ensuite mise de niveau à l'aide des vis 52 et 54 jusqu'à ce que le niveau à bulle 54 confirme l'horizontalité. L'agar-agar est mis en solution et versé dans le plateau 16 avec les peignes 20 en place dans les encoches à peigne 118. On laisse le gel polymériser, puis on enlève les peignes par un mouvement d'agitation et de levage. Après la polymérisation du gel, les bords ou les séparations à chaque extrémité sont enlevés et le plateau à gel amovible contenant le gel coulé est mis en place sur la partie supérieure du support 14 s'il n'y était pas déjà. La partie du gel qui solidifie dans les fentes 116 aide à retenir la plaque de gel dans le plateau à gel amovible 16 pendant la manipulation.

On ajoute ensuite un tampon d'électrophorèse convenable dans les chambres à tampon 24 et 26 en une quantité suffisante pour remplir l'unité à un niveau qui est d'environ 1 à environ 5 mm au-dessus de la surface du gel. Les échantillons à analyser sont ensuite soigneusement injectés dans les puits à échantillon formés par les dents à échantillon 122 des peignes 120 précédemment enlevés en

prenant soin de ne pas déposer d'échantillon sur le gel. Le couvercle amovible 18 est ensuite fermé et les fiches banancs 96 sont réunies aux fils d'alimentation. La source d'alimentation est ensuite mise en circuit et le cycle commence.

Une teinture convenable, telle que du bleu de bromophénol, est ajoutée à la solution d'échantillon avant l'injection pour donner une indication convenable pendant le fonctionnement de l'unité d'électrophorèse 10 de l'analyse d'échantillon. Au fur et à mesure que la source de courant agit sur les échantillons, la migration de la teinture est suivie et l'alimentation en courant est interrompue lorsque la migration est totale. Les fils sont déconnectés des fiches babanes 96, le couvercle 18 est ouvert et le plateau à gel amovible contenant le gel et les échantillons est enlevé du support 14. L'analyse de l'échantillon est faite par des procédés classiques.

Si on le désire, on utilise de l'acrylamide comme gel pour l'analyse de molécules ayant des masses molaires inférieures à environ 1x10⁰ daltons. La petite taille d'ouverture de pores de l'acrylamide donne de plus fortes résolutions que celles offertes par l'agar-agar. Les gels d'acrylamide doivent être utilisés pour l'analyse protéines. Pour durcir un tel gel, on le verse de la même manière que le gel d'agar-agar et le place dans l'unité, mais il doit d'abord être durci avant la mise en oeuvre. Le durcissement est obtenu en reliant les ouvertures 58 et 60 du panneau arrière 22 à une alimentation en azote. L'azote est introduit au travers de ces ouvertures dans l'unité dépourvue de tampon pendant un temps suffisant, en général 30 à environ 40 minutes pour permettre la d'environ polymérisation de la solution de gel d'acrylamide. Les peignes sont ensuite enlevés du gel polymérisé et l'opération est mise en oeuvre après suppression des connections avec la source d'azote, d'une manière identique à celle qui a été décrite à propos du gel d'agar-agar.

Si on le désire, on peut faire circul r un tampon dans

10

15

20

25

30

l'unité 10 pendant son fonctionnement ou après son fonctionnement pour égaliser la composition. Cela est effectué en ouvrant le robinet 56 pour permettre l'écoulement de liquide entre la chambre à tampon 24 et la chambre à tampon 26. Simultanément, un système de pompage convenable est réuni aux orifices 58 et 60 et la pompe est actionnée pour faire circuler la solution tampon dans les chambres à tampon 24 et 26. Si on le désire, le tampon peut être reconstitué dans une unité extérieure et du tampon fraîchement préparé peut être introduit dans l'unité d'électrophorèse.

On utilise le plus généralement des tampons trisborate ou trisacétate, mais d'autres systèmes tampons peuvent également être utilisés.

Diverses mofidifications dans la conception de l'unité d'électrophorèse 10 décrite ci-dessus peuvent être faites sans sortir de l'esprit et de la portée de l'invention. L'homme de l'art reconnaîtra facilement les modifications susceptibles d'être utilisées. Par exemple, des gels de méchage appropriés peuvent être placés dans chaque extrémité du support 14 dans les chambres à tampon 24 et 26, et un papier ou un gel conducteur convenable peut s'étendre entre les deux unités de méchage. La cellule peut ensuite fonctionner selon le procédé décrit dans le brevet des Etats-Unis n° 4.234.400 délivré le 18 Novembre 1980.

Si on le désire, le plateau 36 peut être modifié pour comprendre un puits à mèche à chacune des extrémités qui est rempli de gel le long de la partie plate du plateau, comme décrit ci-dessus. Le tampon est placé dans les chambres à tampon 24 et 26 à un niveau adapté à couvrir le bas de chaque mèche. Les échantillons et l'analyse sont traités de la manière décrite ci-dessus.

10

15

20

25

- j

REVENDICATIONS

- 1- Dispositif d'électrophorèse à gel horizontal, caractérisé en ce qu'il comprend un support (14) généralement plat, deux chambres à tampon (24,26) disposées directement au-dessous dudit support (14) qui va d'une chambre à l'autre, un plateau amovible à gel (16) disposé sur ledit support (14) et adapté à contenir le gel et les échantillons à analyser, une électrode (78,80) dans chacune des chambres à tampon, et un couvercle amovible (18) pour les chambres à tampon, des moyens formant cloison centrale (32) disposés au-dessous dudit support, séparant lesdites chambres à tampon et formant, avec le support, une séparation étanche aux fluides entre elles, des moyens formant robinet (56) prévu dans lesdits moyens formant cloison centrale pour régler l'écoulement de fluide entre lesdites chambres à tampon, et un orifice (58,60) dans chacune desdites chambres à tampon pour introduire des fluides dans lesdites chambres.
- 2 Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que les deux chambres à tampon (24,26) sont constituées d'une partie de fond (34), de deux panneaux latéraux parallèles (20,22) réunis à deux panneaux d'extrémité parallèles (28,30) et en ce que lesdits moyens formant cloison centrale (32) sont fixés entre lesdits panneaux latéraux parallèles (20,22) et ledit fond (34).
 - 3 Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que chacune des électrodes (78,80) est formée d'une partie verticale (84) réunie à une partie horizontale (82), ladite partie horizontale étant disposée au voisinage desdits moyens formant cloison centrale (32) et en-dessous dudit support (14) tandis que ladite partie verticale (84) est fixée à l'un des panneaux latéraux (20) au voisinage desdits moyens formant cloison centrale (32).
- 4 Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que chacune des électrodes (78,80) est fixée à l'intérieur dudit panneau latéral (20) au moyen d'une tige (88) fixée à l'une des extrémités de la partie verticale qui est

10

15

disposée à l'intérieur de la partie inférieure d'un boulon fileté (94) qui peut être fixé par vissage contre un joint souple (90) disposé dans le fond d'un trou à électrode (92) prévu dans ladite paroi latérale, ladite partie horizontale (82) de chacune des électrodes étant fixée à l'intérieur d'une rainure (86) prévue dans le fond (34) de ladite chambre à tampon (24,26) au voisinage desdits moyens formant cloison centrale (32).

5 - Dispositif selon la revendication 3, caractérisé en ce que ledit couvercle amovible (14) est pourvu de moyens d'articulation en vue de sa fixation à l'un desdits panneaux latéraux parallèles (22) desdites chambres à tampon (24,26) comprenant une tige (66) fixée à l'extérieur du panneau latéral parallèle (22) opposée au panneau latéral parallèle (20) dans lequel sont fixées les électrodes (78,80), et des moyens formant charnière fendue (124) fixés à une extrémité dudit couvercle (14) et adaptés à tourner autour de ladite tige (66).

10

15

20

25

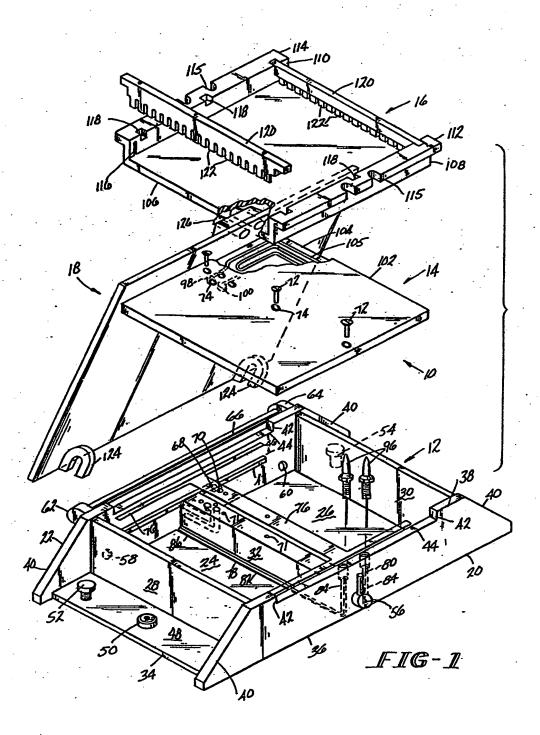
30

- 6 Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que ledit plateau (16) présente des fentes verticales (116) au voisinage de chacune de ces extrémités, pour empêcher l'écoulement de la plaque de gel hors du plateau.
- 7 Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que lesdits panneaux latéraux parallèles (20,22) ont une partie trapézoïdale et en ce que chaque extrémité desdites chambres à tampon (24,26) est fixée aux panneaux latéraux en un point écarté de ladite partie trapézoïdale, laissant ainsi une zone de fond (48) extérieure à chaque chambre à tampon (24,26).
- 8 Dispositif selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'une vis de mise à niveau (52) est placée dans chaque partie de fond (48) extérieure à chaque chambre à tampon (24,26), en ce qu'une goupille de mise à niveau (55) est disposée sur la face inférieure du fond (34) en un point situé au-dessous desdits moyens formant cloison centrale (32) et desdites parties verticales (84) desdites électrodes (78,80), et en c qu'un niveau à bulle (50) est disposé dans

l'une des parties de fond (48).

- 9 Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que les chambres à tampon (24,26) recouvertes par ledit couvercle (18) servent de chambre de répartition à azote pour le coulage en place de gels acrylamides.
- 10 Dispositif selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'il comprend des moyens réfrigérants (105) dans ledit support (14) pour le refroidissement du tampon et du gel.
- 11 Dispositif selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il comprend des moyens d'alimentation en réfrigérant s'étendant au travers desdits moyens formant cloison centrale (32) jusque dans ledit support (14) et des moyens d'extraction dudit réfrigérant s'étendant au travers dudit support (14) jusque dans ladite cloison (32).
 - 12 Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que ledit dispositif (10) permet l'immersion totale du gel dans ledit tampon.

STOCKIN -ED SEENSONAT I



iennnin zeo neemnaa i alaa alaa alaa

